

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 01-243997

(43)Date of publication of application : 28.09.1989

(51)Int.Cl.

C12P 19/04

//(C12P 19/04

C12R 1:02)

(21)Application number : 63-071071

(71)Applicant : AJINOMOTO CO INC

(22)Date of filing : 25.03.1988

(72)Inventor : SUZUKI HIROSHI

HASEGAWA OSAMU

SUZUKI TOSHIAKI

OTOMO MASAYOSHI

NAKAMATSU WATARU

SHIMAZAKI KOJI

(54) PRODUCTION OF MICROBIAL CELLULOSE

(57)Abstract:

PURPOSE: To industrially and advantageously obtain the subject compound useful as a cosmetic, etc., by subjecting a specific microorganism capable of producing cellulose to seed culture, inoculating the seeds into a culture vessel of a bubble column, passing an oxygen-containing gas, culturing the microorganism, dividedly injecting the culture solution into a plate column culture vessel and stationarily culturing the solution.

CONSTITUTION: A strain of *Acetobactor aceti* subsq. *xylinum* (ATCC 10821) is subjected to seed culture at 20W35°C for 24W96hr while being shaken in a culture medium and the seeds are then inoculated into a culture medium in a bubble column culture vessel equipped with no stirrer and cultured therein at 20W35°C for 24W120hr while ventilating oxygen-containing gas. The resultant culture solution is then dividedly injected into a plate column culture vessel and stationarily cultured at

20W35°C for 72W600hr while ventilating the oxygen- containing gas to the surface of the culture solution. Thereby, the aimed microbi al cellulose is obtained.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

⑫ 公開特許公報(A) 平1-243997

⑤ Int. Cl.⁴ 識別記号 庁内整理番号 ⑬ 公開 平成1年(1989)9月28日
 C 12 P 19/04 C-8214-4B
 //C 12 P 19/04
 C 12 R 1:02 審査請求 未請求 請求項の数 4 (全5頁)

⑭ 発明の名称 微生物セルロースの産生方法

⑯ 特 願 昭63-71071

⑰ 出 願 昭63(1988)3月25日

⑱ 発 明 者 鈴 木 博 司 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社中央
 研究所内
 ⑱ 発 明 者 長 谷 川 修 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の株式会社中央研
 究所内
 ⑱ 発 明 者 鈴 木 俊 明 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の株式会社中央研
 究所内
 ⑱ 発 明 者 大 友 正 吉 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の株式会社中央研
 究所内
 ⑲ 出 願 人 味の素株式会社 東京都中央区京橋1丁目5番8号
 ⑳ 代 理 人 弁理士 川口 義雄 外3名
 最終頁に続く

明 細 書

1. 発明の名称

微生物セルロースの産生方法

2. 特許請求の範囲

(1) *Acetobacter aceti* subsp. *xylinum* をシー
ド培養し、攪拌槽を具備していない気泡塔培養槽中の培地に
シードを接種して、酸素含有ガスを通気しながら
気泡塔培養し、得られた培養液を断段培養器に分注して、静置
培養することから成る微生物セルロースの産生方
法。(2) シード培養を、蔗糖又は砂糖；イーストエク
ストラクト又は総合アミノ酸及びフィチン酸； $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ； KH_2PO_4 ；及び MgSO_4 を含有する培地で20～35℃、24～96時
間を行うことから成る特許請求の範囲第1項に記

載の方法。

(3) 気泡塔培養を、蔗糖又は砂糖；イーストエク
ストラクト又は総合アミノ酸及びフィチン酸； $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ； KH_2PO_4 ；及び MgSO_4 を含有する培地に0.1～50%接種して
酸素含有ガスを0.01～2 v.v.の割合で通気しな
がら20～35℃、24～120時間行なうことから成る
特許請求の範囲第1項に記載の方法。(4) 静置培養を、酸素含有ガスを0～5000 $\mu\text{l}/\text{分}$
の割合で培養液表面に通気しながら、20～35℃、
72～600時間行なうことから成る特許請求の範囲
第1項に記載の方法。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、*Acetobacter aceti* subsp.*xylinum*を気泡塔培養(菌の増殖)法と断段静置
培養(微生物セルロースの生成)法とを組合せる

ことによる微生物セルロースの大規模生産方法に関し、更に詳しくは、本発明は、*Acetobacter aceti* subsp. *xylinum* をシード培養し、攪拌機を具備していない気泡塔培養槽中にシードを接種して酸素含有ガスを通気しながら気泡塔培養し、得られた菌の増殖した培養液を階段培養器に分注して静置培養することから成る微生物セルロースの生産方法に関する。

(先行の技術)

Acetobacter aceti subsp. *xylinum* は細胞外にセルロース(微生物セルロース)をシート状又はゲル状に産生する。この微生物セルロースは弾性、破断強度等の物性面で非常に優れたもので、デザート食品をはじめ畜産板、特殊シート、化粧品等の幅広い用途が期待されている。

このような微生物セルロースの生産は静置培養法で行なわれ、培養液の表面に微生物セルロース

問題点がある。

上述のような欠点を解決し、微生物セルロースを大規模生産するための本発明者等の鋭意研究の結果、通気攪拌培養槽のかわりに気泡塔培養槽を用いて培養すると高収率で微生物セルロースを得ることが出来、且つ培養槽内の洗浄が容易且つ簡単に出来るとともに、培養時間を大巾に短縮し得ることを見出し、この知見に基づいて本発明を成すに至った。

(問題点を解決する為の手段)

本発明の微生物セルロースの生産する方法は、*Acetobacter aceti* subsp. *xylinum* をシード培養し、攪拌機を具備していない気泡塔培養槽中にシードを接種して酸素含有ガスを通気しながら気泡塔培養し、得られた培養液を階段培養器に分注して静置培養することから成る。

本発明のシード培養及び気泡塔培養で使用する

のシート状膜が形成する。従来から行なわれている静置培養法は、*Acetobacter aceti* subsp.

xylinum をシード培養し、培養された細菌をコンテナの底地に接種して約20日静置培養する方法であり、微生物セルロースの産生に長期を要する欠点がある。

従って、微生物セルロースの大規模生産及び培養期間の大巾短縮が求められている。

培養期間の短縮をする為、まず *Acetobacter aceti* subsp. *xylinum* のシード培養ステップと静置培養ステップの間に通気攪拌培養ステップを導入する方法が考えられた。

しかしながら、通気攪拌培養を採用すると、培養期間は短縮されるが、培養が進むにつれて攪拌機に産生した微生物セルロースがからみついたり、培養塔内に微生物セルロースゲルが付着したりして培養塔の洗浄に非常な時間と労力を必要とする

培地は、蔗糖又は砂糖；イーストエキストラクト又は総合アミノ酸とフィチン酸； $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ； KH_2PO_4 ；及び MgSO_4 を含有し、 $110\sim 120^\circ\text{C}$ で10～30分間殺菌されたものである。シード培養で使用する培地の pH は $3.5\sim 7.5$ で、気泡塔培養で使用する培地の pH は $3.5\sim 7.5$ である。

使用される培地の好ましい組成は、蔗糖 $2\sim 10\text{ g/dl}$ 又は砂糖 $2\sim 10\text{ g/dl}$ ；イーストエキストラクト $0.1\sim 1.0\text{ g/dl}$ 又は総合アミノ酸 $0.1\sim 1.0\text{ g/dl}$ 及びフィチン酸 $0.01\sim 0.05\text{ mol/dl}$ ； $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ $0.1\sim 2.0\text{ g/dl}$ ； KH_2PO_4 $0.1\sim 1.0\text{ g/dl}$ 及び MgSO_4 $0.01\sim 0.5\text{ g/dl}$ を含有するものである。

シード培養は、殺菌処理された上記培地に *Acetobacter aceti* subsp. *xylinum* 菌を接種し、振盪機上で $20\sim 35^\circ\text{C}$ 、24～96時間おこなう。

気泡塔培養槽は、菌の増殖にともなう培養槽内部へのゲルの付着の防止の為に、培養槽内部には攪拌棒や攪拌羽を用いるような攪拌装置を具備しない代わりに、その底部に培養時の酸素供給と内容物の攪拌を目的とした酸素含有ガスの導入機構を具備している。培養槽上部には導入ガスの排出口が、底部には培養液の取出口が設けられている。又、培養槽の解体洗浄を簡単に実施する為、その底部もしくは包泡塔培養槽の壁面に開放機構を具備している。

酸素含有ガスの導入機構は、気泡塔培養槽の下部又は底部の壁面に直接酸素ガスの吹出孔を少なくとも一つ有するか、又は気泡塔培養槽の下部の壁面より内部に突出した部分に少なくとも一つの吹出孔を有するものであれば良い。槽内部に突出した構造の場合は培養時に付着したゲルを容易に洗浄できる構造であることが好ましい。

本発明の静置培養器は 120℃で変形しない耐熱性樹脂、例えばポリカーボネート製又は金属製トレイを層状に積み重ねた培養器である。各トレイは、その培養液表面を酸素含有ガスが 0~5000 μ l/分、好ましくは 0.2~2000 μ l/分の割合で通気し得るように隙間があいて積み重ねられている。或いは、酸素含有ガスが上述の割合で通気するように上部側面に通気孔のあいているトレイを積み重ねても良い。層状に積み重ねられたトレイは、酸素含有ガス導入機構と排出機構を具備するボックスの中に収納される。

本発明における静置培養は、殺菌処理された上述の静置培養器の各トレイに気泡塔培養された培養液を分注し、トレイの培養液表面を酸素含有ガスが 0~5000 μ l/分の割合で通気するように該ガスを導入し、20~35℃で 3~25日間静置培養する。

上述の気泡塔培養槽に前述の培地を強込み、110~120℃で10~30分間殺菌処理した後、シードを 0.1~50%、好ましくは 0.5~10%接種し、0.01~2 v.v.、好ましくは 0.1~0.5 v.v.の割合で酸素含有ガスを通気し20~35℃、好ましくは25~33℃で24~120時間、好ましくは24~72時間培養する。

ここで通気する酸素含有ガスとしては、酸素ガス、酸素と窒素の混合ガス、殺菌処理された空気等を例示し得る。

気泡塔培養槽内部には攪拌羽根がなく、導入する酸素含有ガスのみによって液の混合を行なうために、酸素含有ガスの通気量が0.01v.v.未満であると、気泡塔培養槽の培地の混合が不充分であり且つ、酸素の供給が不充分となり好ましくない。また、酸素含有ガスの通気量が2v.v.を超えるると培地の攪拌が激しくなりすぎて好ましくない。

静置培養器の殺菌処理は温度 110~120℃で 0.3~2 時間、好ましくは10~100 μ l/分の割合で水を存在させながらおこなわれる。

(発明の効果)

本発明の方法は、微生物セルロースの大規模生産に適しており、短い培養日数、且つ高い収率で、微生物セルロースを得ることが出来る。

例えば、シード培養工程とコンテナによる静置培養工程とからなる従来の培養方法に比べて、本発明の方法はおよそ 2/3 の培養日数で、少なくとも20%増の収率を得ることが出来る。

更に、本発明の方法によれば、気泡塔培養槽の洗浄、静置培養器の組立及び洗浄等において大巾な時間短縮及び労力の省力化を達成することが出来る。

以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、本発明はこれら実施例に限定されるもので

はない。

実施例

内容積 500ml の耐付遠投フラスコに、蔗糖 5g / dl、イーストエキストラクト 0.5g / dl、
 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5g / dl、 KH_2PO_4 0.3g / dl、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.05g / dl
 TMA-821(東芝シリコン社製) 0.001ml / dl
 を含有する培地 (pH=5.0) を 400ml 分注し、
 オートクレーブで 120℃、20分間殺菌処理し、予
 めリフレッシュした *Acetobacter aceti* subsp.
xylinum ATCC 10821 菌株を接種し、振盪機上
 (100rpm)、30℃で48時間培養した。

培養槽内底部に酸素含有ガス導入機構を具備し、
 培養槽上部には導入ガス排出口及びその底部には
 培養液取出口が設けられており、底部が開放され
 るようになっている 0.175ml の内容積の気泡培
 養器にシード培養と同じ培地 (pH=4) を 150

気泡培培養槽の洗浄、静置培養器の洗浄、培養
 液の分注及び培養状態の観察等の操作が容易であ
 り、大巾な処理時間の短縮及び労力の省力化がな
 された。

比較例

実施例で得られたシードを各々のコンテナー
 (縦×横×高さ=645mm×385mm×150mm) に低
 込まれている実施例と同じ培地(5l)に接種した。

殺菌された空気を当該培地表面の通気量が 150
 ml / 分となるように通気し、31.5℃で20日間培養
 した。培養22日後のコンテナー当りのゲル量は
 3.1kg、ゲル厚さは10~13mm、収率(重量/蒸込
 液量)は62%であった。

1 蒸込み 120℃で20分間パッチ殺菌をした。

殺菌処理後、シード培養で得られたシード液
 (菌数 5.7×10^7 個/ml) 1%を接種し、殺菌処
 理された空気を 0.25v.v.m の割合で通気しながら
 30℃で72時間培養した(培養69時間後の菌数は 1×10^8 個/mlであった)。

オートクレーブで 120℃、60分間殺菌処理され
 た棚段静置培養器の各々のトレイ(縦×横×高さ
 =530mm×420mm×80mm)に気泡培培養液を 4l
 分注した。棚段静置培養器のトレイの数は 9枚で
 ある。殺菌された空気を棚段静置培養器のトレイ
 内の培地表面の通気割合が 1l / 分となるように
 導入し、31℃、10日間培養した。

培養10日後のトレイ当りのゲル量は3.12kg、ゲ
 ル厚は11~15mm、収率(重量/蒸込液量)は78.0
 %で、棚段培養器当りのゲル量は28.08 kgであっ
 た。

出願人 (株) 味の素株式会社
 代理人 弁理士 川口 義雄
 代理人 弁理士 中村 至
 代理人 弁理士 船山 武
 代理人 弁理士 朝越 王夫

第1頁の続き

⑦発明者	中 松	亘	神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1	味の株式会社中央研 究所内
⑧発明者	島 崎	孝 二	神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1	味の株式会社中央研 究所内

特開平 1 - 2 4 3 9 9 7

【正誤表】

【公開番号】

特開平 1 - 2 4 3 9 9 7

特開平 8 - 1 5 4 8 5 7

特開平 1 - 1 9 9 7 4 6

特開平 8 - 2 8 1 5 7 8

特開平 7 - 1 4 9 2 6 9

特開平 8 - 2 3 9 3 6 3

特開平 8 - 2 6 0 0 8 0

特開平 8 - 2 7 0 2 5 4

特開平 2 - 1 0 5 1 9 5

特開平 7 - 4 9 8 5 1

特開平 8 - 2 4 9 8 5 6

第 1 部門 (1)

正 誤 表

(平成 9 年 2 月 18 日発行)

特 許 公開番号	分 類	識別 記号	箇 所	誤	正
平 1-243997	C12P 19/04		発明者住所 (二人目) (三人目) (四人目) (五人目) (六人目)	神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1 味の株式会社中央研究所内 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1 味の株式会社中央研究所内 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1 味の株式会社中央研究所内 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1 味の株式会社中央研究所内 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1 味の株式会社中央研究所内	神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1 味の株式会社中央研究所内 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1 味の株式会社中央研究所内 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1 味の株式会社中央研究所内 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1 味の株式会社中央研究所内 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1 味の株式会社中央研究所内

第 1 部 門 (2)

正 誤 表

(平成 9 年 2 月 18 日 発 行)

特 許 公 開 番 号	分 類	識 別 記 号	箇 所	誤	正
平 8-154857	A-47K 3/02		発 明 者	有限会社シンエイ・リース 兵庫県三木市緑が丘町西 2 丁 目 1 番地の 1	水口 準一 兵庫県三木市福井 2 丁目 9 番 34号 田邊 恒親 兵庫県三木市緑が丘町西 2 丁 目 1 番地の 1

第 2 部 門 (3)

正 誤 表

(平成 9 年 2 月 18 日 発 行)

特 許 公開番号	分 類	識別 記号	箇 所	誤	正
平 1-199746	B 23 Q 3/157		発明者氏名 (三人目)	中野 昭彦	中島 昭彦
平 8-281578	B 25 J 9/04		出願人 (三人目)	595054589 大信精機株式会社 愛知県常滑市久米字御林200 番地	削除

第 2 部 門 (5)

正 誤 表

(平成 9 年 2 月 18 日 発 行)

特 許 公開番号	分 類	識別 記号	箇所	誤	正
平 7-149269	B 62 J 17/08		分割の表示 出願日	脱 落 平成 6 年 (1994) 9 月 22 日	特願昭 63 - 250455 の分割 昭和 63 年 (1988) 10 月 4 日

第 3 部 門 (2)

正 誤 表

(平成 9 年 2 月 18 日 発行)

特 許 公開番号	分 類	識別 記号	箇 所	誤	正
平 8-239363	C07D 209/14		出願日	平成 3 年 (1991) 11 月 25 日	平成 4 年 (1992) 10 月 6 日

第 3 部 門 (4)

正 誤 表

(平成 9 年 2 月 18 日 発行)

特 許 公開番号	分 類	識別 記号	箇所	誤	正
平 8-260080	C 22 C 9/04		分割の表示 出願日	脱 落 平成 7 年 (1995) 10 月 31 日	特願昭 62 - 72258 の分割 昭和 62 年 (1987) 3 月 26 日

第 4 部門

正 誤 表

(平成 9 年 2 月 18 日 発行)

特 許 公開番号	分 類	識別 記号	箇所	誤	正
平 8-270254	E04H 9/02	3 3 1	出願人 (目次とも)	595059481 日本リペア株式会社 東京都足立区東保木間 1 丁目 16 番 4 号	596040633 中村 光輝 鹿児島県姶良郡半人町見次 14 78- 4

第 6 部 門 (2)

正 誤 表

(平成 9 年 2 月 18 日 発 行)

特 許 公開番号	分 類	識別 記号	箇 所	誤	正
平 2-105195	G09G 5/00		平成 8 年 9 月 17 日 発 行 の 公 開 ・ 登 録 公 報 に 掲 載 の 正 誤 表 中	平 2 - 105159	平 2 - 105195

第 6 部 門 (3)

正 誤 表

(平成 9 年 2 月 18 日 発 行)

特 許 公開番号	分 類	識別 記号	箇 所	誤	正
平 7 - 49851	G06 F 15/25		平成 8 年 5 月 17 日 発 行 の 公 開 ・ 登 録 公 報 に 掲 載 の 正 誤 表 中	特願平 2 - 418630 の 変 更	特願平 2 - 418630 の 分 割

第 6 部 門 (4)

正 誤 表

(平成 9 年 2 月 18 日 発 行)

特 許 公開番号	分 類	識別 記号	箇所	誤	正
平 8-249856	G11B 23/087	5 0 3	出願人住所	大韓民国大邱廣城市達西区本 里洞195-1号 ヌンブムア パートメント7棟406号	大韓民国大邱廣城市達西区本 里洞195-1号 ヌングムア パートメント7棟406号